

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-026601

(43)Date of publication of application : 27.01.1998

(51)Int.Cl.

G01N 27/327

(21)Application number : 08-180286

(71)Applicant : NEC CORP

(22)Date of filing : 10.07.1996

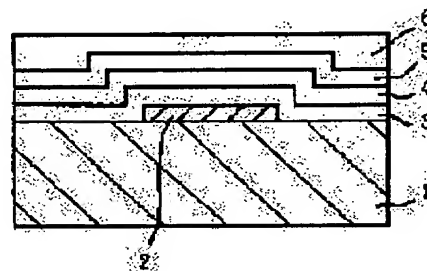
(72)Inventor : MATSUMOTO TATSU
FURUSAWA MASAKO
ITO SHIGEFUMI
NAKAMOTO SHINYA

(54) BIOSENSOR

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To avoid the deterioration or measuring accuracy by the interference material in a sample to be measured by forming a hydrogen peroxide electrode on an insulating substrate, and forming a specified sample film thereon.

SOLUTION: For example, on a hydrogen peroxide electrode 2 formed on an insulating substrate 1, a γ -amino-propyl tri-ethoxy-silane film 3, an acetyl cellulose film 4, a perfluorocarbon sulfonic acid resin film 5 and an organic polymer film 6, to which the enzyme having a catalyst function 13 fixed, are sequentially formed in this structure. The γ -amino-propyl tri-ethoxy-silane film 3 and the acetyl cellulose film 4, which is the cellulose derivative, have the limiting permeability, which excludes the molecules having the large molecular weight by the minute layer having infinitesimal holes. The perfluorocarbon sulfonic acid resin film 5, which is the ion-exchange resin having perfluorocarbon as the skelton, has the limiting permeability, which excludes charged molecules and atoms. Therefore, the effect of the limiting permeability for high-concentration interference material is improved.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 10.07.1996

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 2943700

[Date of registration] 25.06.1999

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許番号

第2943700号 ✓

(45) 発行日 平成11年(1999) 8 月30日

(24) 登録日 平成11年(1999) 6 月25日

(51) Int.Cl.⁶

識別記号

F I

G 0 1 N 27/327

G 0 1 N 27/30

3 5 3 B

請求項の数 9 (全 13 頁)

(21) 出願番号 特願平8-180286

(22) 出願日 平成 8 年(1996) 7 月10日

(65) 公開番号 特開平10-26601

(43) 公開日 平成10年(1998) 1 月27日

審査請求日 平成 8 年(1996) 7 月10日

(73) 特許権者 000004237

日本電気株式会社

東京都港区芝五丁目 7 番 1 号

(72) 発明者 松本 達

東京都港区芝五丁目 7 番 1 号 日本電気株式会社内

(72) 発明者 古澤 真抄子

東京都港区芝五丁目 7 番 1 号 日本電気株式会社内

(72) 発明者 伊藤 成史

東京都港区芝五丁目 7 番 1 号 日本電気株式会社内

(74) 代理人 弁理士 鈴木 章夫

審査官 加々美 一恵

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 バイオセンサ

1

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 絶縁基板上に過酸化水素電極を形成し、その上にγ-アミノプロピルトリエトキシシランを主成分とする第 1 の膜と、セルロース誘導体を主成分とする第 2 の膜と、骨格にパーフルオロカーボンをもったイオン交換性樹脂を主成分とする第 3 の膜と、過酸化水素を生成する触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子を主成分とする第 4 の膜が、前記第 1 の膜から第 4 の膜の順序で順次積層されていることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 2】 絶縁基板上に過酸化水素電極を形成し、その上にγ-アミノプロピルトリエトキシシランを主成分とする第 1 の膜と、セルロース誘導体を主成分とする第 2 の膜と、骨格にパーフルオロカーボンをもったイオン交換性樹脂を主成分とする第 3 の膜と、過酸化水素を

2

生成する触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子を主成分とする第 4 の膜と、ポリアルキルシロキサンを主成分とする第 5 の膜が前記第 1 の膜から第 5 の膜の順序で順次積層されていることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 3】 前記γ-アミノプロピルトリエトキシシランの製膜時の濃度が 0. 5～2 (v/v%) の範囲内にある請求項 1 または 2 に記載のバイオセンサ。

【請求項 4】 前記セルロース誘導体がアセチルセルロースであり、このアセチルセルロースの製膜時の濃度が 0. 5～5 (w/v%) の範囲内にある請求項 1 ないし 3 のいずれかに記載のバイオセンサ。

【請求項 5】 前記パーフルオロカーボンをもったイオン交換性樹脂がパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂であり、このパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂の製膜時の濃度が 1 (v/v%) 以上である請求項 1 ないし 4

10

3

のいずれかに記載のバイオセンサ。

【請求項6】 前記触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜の製膜時にグルタルアルデヒド-アルブミン溶液が使用され、そのグルタルアルデヒド濃度が0.1～2 (v/v%) の範囲内にある請求項1ないし5のいずれかに記載のバイオセンサ。

【請求項7】 前記ポリアルキルシロキサン製の膜時の濃度が7.0 (v/v%) 以上である請求項2ないし6のいずれかに記載のバイオセンサ。

【請求項8】 前記絶縁基板の上の過酸化水素電極が作用極、対極および参照電極から形成されている請求項1ないし7のいずれかに記載のバイオセンサ。

【請求項9】 前記絶縁性基板上に作用極が2つ以上形成され、同時に触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜も2種類以上形成されている請求項8に記載のバイオセンサ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、測定試料中の特定成分を電気化学的手法を用いて分析するバイオセンサに関し、特に酸化還元物質等の妨害物質もしくは干渉物質の影響を受けず、測定試料のpH値による測定精度低下を抑制可能で、測定濃度範囲の広いバイオセンサに関するものである。

【0002】

【従来の技術】 測定試料中の特定成分を酵素の触媒機能により過酸化水素に変換し、この過酸化水素を電気化学反応を利用して計測するバイオセンサの測定精度は、センサの電極表面で過酸化水素以外の酸化還元反応を起こす測定試料中の物質（以下、干渉物質という）に大きく影響される。この影響は特に測定試料として尿、血液などの体液を測定対象とした場合に大きな問題となっている。干渉物質としては、アスコルビン酸、尿酸およびアセトアミノフェンなどが挙げられる。従来からこれらの干渉物質の影響を防ぐため、フッ素系のイオン交換性高分子膜やセルロース誘導体の膜で電極表面を覆い、電極表面へのこれらの干渉物質の透過を制限していた。

【0003】 例えば、特開平7-159366号公報に示されるように、携帯型測定器の電極表面への干渉物質の透過を制限することを目的として、アセチルセルロースやイオン交換性膜材などが用いられている。図12は前記公報の干渉物質の電極表面への透過を制限する構造を示した図である。同図において、20は内部に酵素センサ38を内蔵しているセンサホルダである。そして、下地電極30のプレーナ型過酸化水素電極は、例えばセラミックスや樹脂フィルム31の表面に、金属電極32として例えば白金、金、銀の薄膜を選択的に形成したものである。33は下地電極上に固定化される固定化酵素膜である。この固定化酵素膜33はグルコース酸化酵素や乳酸酸化酵素等の酵素からなる固定化酵素層を上下層

4

で保護するようなサンドイッチ構造が代表的である。固定化酵素層35は架橋剤を用いる架橋法、ゲルの格子や高分子で被覆する包括法などで形成される。下部保護膜34は必要により電極表面への干渉物質の透過を制限するものであり、下地電極30および固定化酵素層35との密着性・安定性が必要であり、アセチルセルロースやイオン交換性膜材などが利用される。上部保護膜36は固定化酵素層35の保護、固定化酵素層35への基質の拡散制限を目的とするものであり、固定化酵素層35との密着性と機械的強度が必要である。そして、ナイロン格子やポリカーボネイト等からなる表面保護膜37は上部保護膜36の機能を強化するために別途に上部保護膜36上に密着させたものである。これらの各層の形成には、ディップコート法やスピンコート法を用いることで、薄く均一な膜を得ることができる。例えば、下部保護膜34は5%アセチルセルロース薄膜（溶媒組成はアセトン：シクロヘキサン＝3：1）を金属電極32に滴下し、2000rpmで5秒間回転させて形成される。固定化酵素層35は0.1Mリン酸緩衝液（pH7.0）で調製された0.5%グルタルアルデヒド溶液と酵素とを混合した酵素溶液を下部保護膜34と同様にスピンコートとして形成される。上部保護膜36は2.5%アセチルセルロース薄膜（溶媒組成はアセトン：エタノール＝1：1）を1（cm/秒）でディップコートして形成される。

【0004】 触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜への測定対象物質の過剰な拡散を制限する技術としては、以下のような技術が知られている。例えば、特開昭63-304150号公報に示される技術では、グルコースオキシダーゼを2つの膜の間に保もち固定化するサンドイッチ構造をとっている。外側の膜はポリカーボネイトからなり、タンパク質などの巨大分子の通過とグルコースの拡散を制限する。この膜によってセンサの測定濃度範囲を拡大している。内側の膜はシリコンゴムまたはメチルメタクリレートまたはアセチルセルロースからなり、過酸化水素のみを透過させ、干渉物質の透過を排除する。アセチルセルロース膜は過酸化水素の透過性と強度の兼ね合いから、2-3μmが好ましいとされている。

【0005】 また特公平8-16669号公報に示される技術では、シリコンを主成分とする膜がグルコースの制限透過膜として用いられている。図13はこの公報に示されている技術の一例を示す図である。絶縁基板1上に作用極10、対極11、参照極12を形成する。その後グルコース酸化酵素固定化膜41およびシリコン膜42をフォトリソグラフィ法を用いて形成し、最後にチップ毎に切断しグルコースセンサとする。この発明によるグルコースセンサの製造方法は、膜をフォトリソグラフィ法を用いてパターンニングするため、特性の揃ったグルコースセンサを大量に製造することが可能である。

5

【0006】さらに、測定精度の向上に関する他の従来技術としては、特開平8-50112号公報に示されるように、ナフィオン膜がセンサの応答がピークに到達した後の経時的な変化をなくし、応答特性を向上せしめる目的で用いられている。図14はこの公報に示されている技術の一例を示す図である。絶縁基板1上に作用極10、対極11、参照極12が形成されている。この作用極10上にアセチルセルロース膜51、グルコース酸化酵素-光架橋ポリビニルアルコール混合物膜52、およびナフィオン膜53を順次積層したサンドイッチ構造のグルコースバイオセンサである。また、作用極10の周囲はシリコン接着剤54で絶縁されている。この発明によるグルコースバイオセンサにおいては、グルコース酸化酵素-光架橋ポリビニルアルコール混合物膜52の作用極側にはアセチルセルロース膜51を設け、それによってアスコルビン酸などの干渉物質の透過を防止し過酸化水素のみを透過させ、またその反対側には骨格にナフィオン膜53を設けることにより、その応答値がピークに到達した後の経時的な変化をなくし、応答特性を向上せしめるという効果が得られている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】このような従来の技術においては、次のような問題が生じている。第1の問題点は、電極表面への干渉物質の透過の制限が十分でない、ということである。その理由は、単一種の制限透過膜で干渉物質の透過を十分に制限するためには、制限透過膜の膜厚を厚くするか、制限透過膜の主成分濃度を高くする必要があり、この場合、過酸化水素の透過も制限されるため、バイオセンサの応答速度、応答出力を損なわれるためである。

【0008】第2の問題点は、測定試料中に測定対象物質が高濃度で存在する場合、従来の制限透過膜では測定対象物質の拡散を十分に制限できず、センサ出力が飽和することである。その理由は、測定対象物質が過剰に有機高分子膜に拡散することによって、測定対象物質が有機高分子膜中の酵素によって過酸化水素に変換しきれなくなるためである。

【0009】第3の問題点は、測定試料中のpH変動に伴ってセンサ出力が変動することである。その理由は、有機高分子膜中の酵素には至適pHが存在するため、測定試料のpH変動によって酵素の活性が影響を受け、その結果センサ出力も変動するためである。

【0010】本発明の目的は、干渉物質の電極への透過を十分に制限可能な制限透過膜を備えたバイオセンサを提供することにある。本発明のその他の目的は、測定試料中の測定対象物質濃度が高濃度でも出力が飽和しないバイオセンサを提供することにある。本発明のその他の目的は、測定試料のpH変動しても、出力が変動しにくいバイオセンサを提供することにある。

【0011】

6

【課題を解決するための手段】本発明による第1のバイオセンサは、絶縁基板上に形成された電極上にγ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜、その上にアセチルセルロース膜、その上にパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜、そしてその上に触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜が順次形成された構造をもつものである。γ-アミノプロピルトリエトキシシランおよびセルロース誘導体であるアセチルセルロース膜は、微細な孔をもつ緻密層によって分子量の大きな分子を排除する制限透過性を持ち、パーフルオロカーボンを骨格にもつイオン交換性膜であるパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜は、荷電をもった分子や原子を排除する制限透過性をもつ。このため、それぞれを単独で用いるよりも高濃度の干渉物質に対する制限透過性の効果が向上する。また、アセチルセルロース膜上に形成されたパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜は荷電をもたない過酸化水素の過酸化水素電極への透過を妨害しないため、過酸化水素の検出感度の低下が起こらない。

【0012】本発明による第2のバイオセンサは、絶縁基板上形成された電極上にγ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜、その上にアセチルセルロース膜、その上にパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜、その上に触媒機能をもった有機高分子膜、そしてその上にポリアルキルシロキサンを主成分とする膜が順次形成された構造をもつものである。触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜上にポリアルキルシロキサンを主成分とする膜を形成することにより、タンパク質などの巨大分子の透過と測定対象物質の拡散を制限することによってバイオセンサのセンサ出力安定化と測定濃度範囲拡大が可能となる。さらに、センサ出力が測定試料のpHの影響を受けにくくなる。

【0013】

【発明の実施の形態】次に、本発明の第1の実施の形態について図面を参照して説明する。図1は本発明の第1の実施形態のバイオセンサの断面構成図であり、このバイオセンサは、絶縁基板1上に過酸化水素電極2を形成し、その上に第1の膜としてγ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜3、第2の膜としてアセチルセルロース膜4、第3の膜としてパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜5、そして第4の膜として触媒機能をもった有機高分子膜6を順次形成した構造をもつものである。前記絶縁基板1の材料は、絶縁性の高いセラミックス、ガラスもしくは石英を主成分とするものであればよいが、耐水性、耐熱性、耐薬品性および上記電極との密着性に優れた材料であればよい。過酸化水素電極2の材料は、白金、金、銀を主成分とするものであればよいが、測定試料と反応せず、また耐薬品性および過酸化水素の検出特性の優れた白金が望ましい。また、絶縁基板1上の白金の形成方法は、スパッタリング法、イオンプレーティング法、真空蒸着法、ケミカル・ペーパー・ディポジシ

7

ョン法、電解法で形成することが望ましいが、短時間でしかも低コストで絶縁基板1上に白金膜を形成することが可能なスパッタリング法が望ましい。

【0014】過酸化水素電極2上に形成する最初の膜であるγ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜3は、純水で希釈したγ-アミノプロピルトリエトキシシランを過酸化水素電極2上に滴下して、スピンコート法で形成される。γ-アミノプロピルトリエトキシシランを純水で希釈するのは、純水で希釈することによって、γ-アミノプロピルトリエトキシシラン中のアルコキシル基が水と加水分解してシラノール基を生成させるためである。純水中に溶解するγ-アミノプロピルトリエトキシシラン濃度は0.5~2 (v/v%) が望ましい。これは、0, 0.5, 1, 0, 2, 0 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液を滴下し、スピンコート法でγ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜を製膜した後、この電極の過酸化水素に対する電流出力値とアスコルビン酸に対する電流出力値を相対出力値で表した図5に示されているように、干渉物質(アスコルビン酸)のみの制限透過性は、γ-アミノプロピルトリエトキシシランの濃度が0.5~2 (v/v%) の範囲において認められるからである。さらに望ましくは、最も顕著に制限透過性が向上する1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液を用いる。

【0015】次にアセチルセルロース膜4は、アセトンに溶解させて調製したアセチルセルロースをγ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜3上に滴下し、スピンコート法で形成される。アセトンに溶解させるのは、アセチルセルロースがアセトンに対して高い溶解性をもつため、容易に溶解させることができるからである。アセトン中のアセチルセルロース濃度は0.5~5 (w/w%) が望ましい。これは、アセチルセルロース濃度が0, 1, 2, 3, 4, 5 (w/v%) のアセチルセルロース溶液をγ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜上に滴下しスピンコート法でアセチルセルロース膜を製膜した後、この電極の過酸化水素に対する電流出力値とアスコルビン酸に対する電流出力値を相対出力値で表したアセチルセルロース濃度に対する過酸化水素の電流出力値とアスコルビン酸の出力値の割合を相対出力値で表した図6に示されているように、干渉物質(アスコルビン酸)のみの制限透過性は、アセチルセルロースの濃度が0.5~5 (w/v%) の範囲において認められるからであり、さらに望ましくは、制限透過性が最も顕著に向上する2 w/v% アセチルセルロース溶液を用いる。

【0016】次にパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜5は、エタノールに溶解させて調製したパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂をアセチルセルロース膜4上に滴下し、スピンコート法で形成される。溶媒はエタノール以外にもイソプロピルアルコールでも良いが、価格の安いエタノールが好ましい。滴下するパーフルオロカー

8

ボンスルホン酸樹脂の濃度は、1 (v/v%) 以上が好ましい。これは、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂の濃度が0, 1, 2, 3, 5 (w/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液をγ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜上に滴下し、スピンコート法でパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜を製膜した後、過酸化水素に対する電流出力値とアスコルビン酸に対する電流出力値を相対出力値で表した図7に示されているように、干渉物質(アスコルビン酸)の制限透過性は、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂の濃度が1~5 (v/v%) の範囲において認められるからである。さらに望ましくは最も顕著に制限透過性が向上する5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液を用いる。

【0017】触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜6は、酸化酵素、0.1~2 (v/v%) のグルタルアルデヒド、アルブミンを含む水溶液を、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜5上に滴下し、スピンコート法で形成される。各種酸化酵素としては乳酸酸化酵素、グルコース酸化酵素、尿素酸化酵素、尿酸酸化酵素、ガラクトース酸化酵素、ラクトース酸化酵素、スクロース酸化酵素、エタノール酸化酵素、メタノール酸化酵素、スターチ酸化酵素、アミノ酸酸化酵素、モノアミン酸化酵素、コレステロール酸化酵素、コリン酸化酵素およびビルビン酸酸化酵素等、触媒反応の生成物として過酸化水素を生成する酵素が挙げられる。図8に示されているように、滴下する水溶液中のグルタルアルデヒドの濃度は、0.1~2 (v/v%) がよく、さらに望ましくは、0.5~1 (v/v%) がよい。これは、この濃度範囲において、出力の安定したバイオセンサを得ることができるからである。なお、膜の形成方法については、均一な膜厚が形成できる方法であればよく、スピンコート法以外にもスプレーコート法なども用いることができる。

【0018】次に、本発明の第2の実施の形態について図面を参照して説明する。図2は第2の実施形態の断面図であり、この実施形態のバイオセンサは、絶縁基板1上に過酸化水素電極2を形成し、その上に第1の膜としてγ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜3、第2の膜としてアセチルセルロース膜4、第3の膜としてパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜5、第4の膜として触媒機能をもった有機高分子膜6を有し、さらに第5の膜としてポリアルキルシロキサン膜7を順次形成した構造をもつものである。

【0019】過酸化水素電極2、γ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜3、アセチルセルロース膜4、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜5、触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜6は第1の実施の形態と同様な方法により順次形成する。次に、ポリアルキルシロキサン濃度が7 (v/v%) 以上のポリアルキルシロキサン溶液を触媒機能をもった有機高分子膜6上に滴下

し、スピンコート法によりポリアルキルシロキサン膜7を形成する。ポリアルキルシロキサン膜製膜時のポリアルキルシロキサン濃度を7 (v/v%) 以上にするのは、ポリアルキルシロキサン膜に十分な制限透過性をもたせるためであり、さらに十分な制限透過性をもたせるためには、10 (v/v%) 以上であることが望ましい。

【0020】次に、本発明の第3の実施の形態について図3を用いて詳細に説明する。図3はその断面図であり、絶縁基板1上に作用極10、対極11および参照極12を形成し、その上にγ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜3、アセチルセルロース膜4、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜5、そしてその上に触媒機能をもった有機高分子膜6を順次形成された構造をもつものである。作用極10の材料は、白金、金、炭素であればよいが、好ましくは過酸化水素の検出特性優れ、耐酸性および耐薬品性を備えた白金が望ましい。また、絶縁基板1上の作用極10の形成方法は、短時間でしかも低コストで形成することが可能なスパッタリング法が望ましい。対極11の材料は白金、銀、炭素であればよいが、導電性に優れ、耐酸性および耐薬品性を備えた白金が望ましい。また、絶縁基板1上の対極11の形成方法は、短時間でしかも低コストで形成することが可能なスパッタリング法が望ましい。参照極12の材料は銀/塩化銀が用いられる。銀/塩化銀の形成方法は上記のスパッタリング法で銀を形成した後、塩酸溶液中で電解重合か、銀よりもイオン化傾向の大きな金属塩化物もしくは酸化還元電位の低い金属塩化物を含有する溶液に浸漬して塩化銀を形成する方法が望ましい。大量生産する際に低コストでしかも容易に製作することが可能であるからである。

【0021】これらの極上に第1の実施の形態と同様にして、γ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜3、アセチルセルロース膜4、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜5、触媒機能をもった有機高分子膜6が形成される。さらに、触媒機能をもった有機高分子膜の上に第2の実施の形態と同様にしてポリアルキルシロキサン膜7を形成することも可能である。この実施形態によれば、第1及び第2の実施形態と同様な効果が得られるとともに、作用極、対極、参照極が一つの絶縁基板上に形成されるため、このバイオセンサを実装する測定装置を小型化でき、さらに、測定装置を簡素化し、しかも製造コストを下げる効果を有する。

【0022】次に、本発明の第4の実施の形態について図4を用いて詳細に説明する。図4はその断面図であり、絶縁基板1上に作用極10を2つ形成し、その上に第1の実施の形態と同様にして、γ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜3、アセチルセルロース膜4、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜5を順次形成する。そしてその上に触媒機能をもった有機高分子膜6と触媒

機能をもった有機高分子膜13を、それぞれ各作用極10上に形成される構造をもつものである。触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜6とこれとは異なる触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜13の形成は、フォトリソグラフィを用いて行う。触媒機能をもった有機高分子膜6と触媒機能をもった有機高分子膜13としては、たとえば、乳酸酸化酵素を固定化した有機高分子膜と、グルコース酸化酵素を固定化した有機高分子膜である。絶縁基板上1上に形成される作用極と触媒機能をもった有機高分子膜の数に制限はない。さらに、触媒機能をもった有機高分子膜の上に第2の実施の形態と同様にして、ポリアルキルシロキサン膜7を形成することも可能である。この実施形態によれば、測定試料中の2種類の特定成分を同時に分析できるバイオセンサが作製できる。さらに、作用極10と触媒機能をもった有機高分子膜の数に制限がないため、3種類以上の特定成分を分析することができるバイオセンサを作製することも可能である。

【0023】

【実施例】以下、本発明の実施例を説明する

(実施例1)

絶縁基板上に形成した電極面積が3mm² 過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.55 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピンコートして製膜したグルコースセンサと、同様の過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピンコートして製膜したグルコースセンサと、同様の過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース溶液、5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピンコートして製膜したグルコースセンサをそれぞれ作製した。

【0024】評価は干渉物質として40 (mg/dl) のアスコルビン酸を含む100 (mg/dl) のグルコース溶液中のグルコース濃度を測定したときの測定値を比較して行った。表1に干渉物質が含まれない100 (mg/dl) のグルコース溶液のみを測定したときの測定値を100%としたときのそれぞれの製膜条件時に得られる出力値を相対値で示す。すなわち、表1中の値が100%に近いほど干渉物質の影響を受け難い製膜条件であることを示している。その結果、過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース

溶液、5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピンコートして製膜したグルコースセ

(表1) (各種製膜条件で製作したグルコースセンサの干渉物質に対する影響評価)

製膜条件	相対出力値 (%)
APTES *)	322
APTES + アセチルセルロース	186
APTES + アセチルセルロース + パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂	100

*) γ-アミノプロピルトリエトキシシラン

【0026】 (実施例2)

絶縁基板上に形成した電極面積が3mm²の酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピンコートして製膜したグルコースセンサと、同様の過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピンコートして製膜したグルコースセンサと、同様の過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース溶

20

液、5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピンコートして製膜したグルコースセンサをそれぞれ作製した。

【0027】評価は100 (mg/dl) グルコースの測定時に電流出力値が定常状態となるまでに要する時間を測定し比較した。結果を表2に示す。その結果、上記材料を用いて製作したグルコースセンサおよび上記構造のグルコースセンサは、測定時に要する時間に影響を与えることはなかった。これは上記材料や構造が酵素の基質に影響しないことを示している。表2中のAPTESはγ-アミノプロピルトリエトキシシランである。

【0028】

30

(表2) (各種製膜条件で製作したグルコースセンサの干渉物質に対する影響評価)

製膜条件	測定時間 (秒)
APTES	30
APTES + アセチルセルロース	29
APTES + アセチルセルロース + パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂	31

【0029】 (実施例3)

絶縁基板上に形成した電極面積が3mm²の過酸化水素電極上に0.5、1、2 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース溶液、5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピンコートして製膜したグルコースセンサをそれぞれ製作した。

50

【0030】評価は干渉物質として40 (mg/dl) のアスコルビン酸を含む100 (mg/dl) のグルコース溶液中のグルコース濃度を測定したときの測定値を比較して行った。表3に干渉物質が含まれない100 (mg/dl) のグルコース溶液のみを測定したときの測定値を100%とし、そしてそれぞれの製膜条件時に得られる出力値を相対値で示す。すなわち、表中の値が100%に近いほど干渉物質の影響を受け難い製膜条件であることを示している。その結果、γ-アミノプロピ

ルトリエトキシシラン水溶液の濃度は1 (v/v%) が 【0031】
最適であることがわかった。

(表3) (製膜条件としてγ-アミノプロピルトリエトキシシランの濃度を変えて
製作したグルコースセンサの干渉物質に対する影響評価)

γ-アミノプロピルトリエトキシシラン濃度 (v/v%)	相対出力値 (%)
0.5	183
1	100
2	136

【0032】 (実施例4)

絶縁基板上に形成した電極面積が3mm²の過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、1, 2, 3, 4, 5 (w/v%) のアセチルセルロース溶液、5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピコートして製膜したグルコースセンサそれぞれ製作した。

【0033】評価は干渉物質として40 (mg/dl) のアスコルビン酸を含む100 (mg/dl) のグルコ

ース溶液中のグルコース濃度を測定したときの測定値と比較して行った。表4に干渉物質が含まれない100 (mg/dl) のグルコース溶液のみを測定したときの測定値を100%とし、そしてそれぞれの製膜条件時に得られる出力値を相対値で示す。すなわち、表中の値が100%に近いほど干渉物質の影響を受け難い製膜条件であることを示している。その結果、干渉物質の影響を低減させる最適なアセチルセルロースの濃度は2 (w/v%) であった。

【0034】

(表4) (製膜条件としてアセチルセルロース濃度の濃度を変えて製作したグルコースセンサの干渉物質に対する影響評価)

アセチルセルロース濃度 (w/v%)	相対出力値 (%)
1	225
2	100
3	95
4	87
5	71

【0035】 (実施例5)

絶縁基板上に形成した電極面積が3mm²の過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース溶液、1, 2, 5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピコートして製膜したグルコースセンサそれぞれ製作した。

【0036】評価は干渉物質として40 (mg/dl) のアスコルビン酸を含む100 (mg/dl) のグルコ

ース溶液中のグルコース濃度を測定したときの測定値と比較して行った。表5に干渉物質が含まれない100 (mg/dl) のグルコース溶液のみを測定したときの測定値を100%とし、そしてそれぞれの製膜条件時に得られる出力値を相対値で示す。すなわち、表中の値が100%に近いほど干渉物質の影響を受け難い製膜条件であることを示している。その結果、干渉物質の影響を低減させる最適なパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂の濃度は5 (v/v%) であった。

【0037】

(表5) (気膜条件としてパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂の濃度を変えて作したグルコースセンサの干渉物質に対する影響評価)

パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂濃度 (v/v%)	相対出力値 (%)
1	196
2	132
5	100

【0038】(実施例6)

絶縁基板上に形成した電極面積が 3mm^2 の過酸化水素電極上に1 (v/v%)のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%)のアセチルセルロース溶液、5 (v/v%)のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%)のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピコートして製膜したグルコースセンサと、同様に過酸化水素電極上に1 (v/v%)のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%)のアセチルセルロース溶液、5 (v/v%)のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そして乳酸酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%)のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピコートして製膜した乳酸センサと、同様に過酸化水素電極上に1 (v/v%)のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%)のアセチルセルロース溶液、5 (v/v%)のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてエタノール酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%)

%)のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピコートして製膜したエタノールセンサをそれぞれ製作した。

【0039】評価は干渉物質として40 (mg/dl)のアスコルビン酸を含む100 (mg/dl)のグルコース溶液、200 μMの乳酸溶液および0.1 (w/v%)のエタノール中のそれぞれの濃度を測定したときの測定値を比較して行った。表6に干渉物質が含まれない100 (mg/dl)グルコース溶液、200 μMの乳酸溶液および0.1 (w/v%)のエタノールのみを測定したときの測定値を100%とし、そして各種酸化酵素を用いて液体中の特定成分を測定したときに得られる出力値を相対値で示す。すなわち、表中の値が100%に近いほど干渉物質の影響を受け難いことを示している。その結果、上記材料および上記構造は、各種酸化酵素を利用して特定成分を検出するセンサの種類によらず、干渉物質の影響を低減させた。

【0040】

(表6) (各種酸化酵素を用いて製作した各種センサで液体中の特定成分を測定したときの干渉物質に対する影響評価)

酸化酵素の種類	相対出力値 (%)
グルコース酸化酵素	100
乳酸酸化酵素	101
エタノール酸化酵素	99

【0041】(実施例7)

絶縁基板上に形成した電極面積が 3mm^2 の過酸化水素電極上に1 (v/v%)のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%)のアセチルセルロース溶液、5 (v/v%)のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%)のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピコートして製膜したグルコースセンサを製作した。

【0042】評価は干渉物質として40 (mg/dl)

のアスコルビン酸、2 (mg/dl)の尿酸、2 mMのオルトアセトアミノフェンをそれぞれ含む100 (mg/dl)のグルコース溶液中のグルコース濃度を測定したときの測定値を比較して行った。表7に干渉物質が含まれない100 mg/dlのグルコース溶液のみを測定したときの測定値を100%とし、そして各種干渉物質を含む溶液中のグルコースを測定したときに得られる測定値を相対値で示す。すなわち、表中の値が100%に近いほど干渉物質の影響を受け難いことを示している。

その結果、上記材料および上記構造は、アスコルビン

酸、尿酸塩およびアセトアミノフェンに対して高い制限透過性をもっていた。

【0043】

(表7) (各種干渉物質を含む溶液中のグルコースを測定したときの影響評価)

干渉物質	相対出力値 (%)
アスコルビン酸	100
尿酸	100
オルト・アセトアミノフェン	102

【0044】 (実施例8)

絶縁基板上に形成した電極面積が 3 mm^2 過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース溶液、5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピコートして製膜したグルコースセンサと、同面積の過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン、5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピコートして製膜したグルコースセンサをそれぞれ製作した。

【0045】 評価は干渉物質として40 (mg/dl)

のアスコルビン酸を含む100 (mg/dl) のグルコース溶液中のグルコース濃度を測定したときの測定値を比較して行った。表8に干渉物質が含まれない100 (mg/dl) のグルコース溶液のみを測定したときの測定値を100%とし、そしてそれぞれの製膜条件時に得られる出力値を相対値で示す。すなわち、表中の値が100%に近いほど干渉物質の影響を受け難い製膜条件であることを示している。その結果、干渉物質に対する制限透過性は、過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース溶液、5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピコートして製膜した構造をもつグルコースセンサが高かった。

【0046】

(表8) (各種製膜条件で製作したグルコースセンサの干渉物質に対する影響評価)

製膜条件	相対出力値 (%)
APTES + アセチルセルロース + パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂	100
APTES + パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂 + アセチルセルロース	122

【0047】 (実施例9)

絶縁基板上に形成した電極面積が 3 mm^2 過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース溶液、5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液を順次スピコートして、γ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜、アセチルセルロース膜、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜を形成した後、グルコース酸化酵素と0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を各々パーフルオロカーボンスルホン酸膜上に滴下し、スピコート法で有機高分子膜を製膜

したグルコースセンサ6種を作成した。これらのグルコースセンサを用いて10 (mg/dl) グルコース溶液を11回繰り返して測定した。アルブミン溶液中のグルタルアルデヒド濃度とグルコースセンサのグルコースに対する電流出力値の変動係数を表した図8に示されているように、グルコースセンサはグルタルアルデヒド濃度が0.5~1.0 (v/v%) であるようなアルブミン溶液を滴下して有機高分子膜を製膜した場合において最も安定したセンサ出力を与えた。

【0048】 (実施例10)

絶縁基板上に形成した電極面積が 3 mm^2 過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキ

シラン水溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース溶液、5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ 0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピコートして製膜した。さらに、各種濃度のポリアルキルシロキサン溶液をグルコース酸化酵素を固定化した有機高分子膜上に滴下し、スピコート法でポリアルキルシロキサン膜を製膜した後、これらグルコースセンサにより各種濃度のグルコース溶液に対する電流出力値を測定した。各センサの相対出力値を表した図9に示されているように、グルコースの制限透過性は、ポリアルキルシロキサン濃度が7 (v/v%) 以上の場合において認められ、特に10 (v/v%) 以上の場合では、グルコース濃度500 (mg/dl) まで電流出力値が飽和せず、高濃度のグルコース溶液の測定が可能であった。

【0049】(実施例11)

絶縁基板上に形成した電極面積が3mm² 過酸化水素電極上に1 (v/v%) のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン水溶液、2 (w/v%) のアセチルセルロース溶液、5 (v/v%) のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液、そしてグルコース酸化酵素を含み、かつ 0.5 (v/v%) のグルタルアルデヒドを含むアルブミン溶液を順次スピコートして製膜した。さらに、その上にダウコーニング社製のシリコーンを用いて調製した14 (v/v%) ポリアルキルシロキサン溶液をグルコース酸化酵素を含有する有機高分子膜上に滴下し、スピコート法でポリアルキルシロキサン膜を製膜した。図10はこのようにして形成したポリアルキルシロキサン膜を有するグルコースセンサの、pHの異なる100 (mg/dl) グルコース溶液に対する電流出力値をpH7の出力値を100%とした相対出力値で表した図である。図11にはポリアルキルシロキサン膜を形成しなかったグルコースセンサの100 (mg/dl) グルコース溶液に対する電流出力値もpH7の出力値を100%とした相対出力値で表した。ポリアルキルシロキサン膜を有するグルコースセンサはpH6~8の範囲でほぼ同程度の出力値をもたらしたのに対し、ポリアルキルシロキサン膜を形成しなかった場合、出力値はグルコース溶液のpHに大きく左右された。

【0050】

【発明の効果】以上の実施形態および実施例の説明から明かなように、本発明のバイオセンサによれば、次の効果を得ることができる。第1の効果は、高濃度の干渉物質を含有する測定試料中の特定成分を精度良く測定することが可能になることである。その理由は、過酸化水素電極上に、γ-アミノプロピルトリエトキシシランの膜、アセチルセルロース膜そしてパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜を順次形成したため、触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜中で発生した過酸化水素

の電極への透過の制限を最小限に抑え、かつ、干渉物質の電極への透過が十分制限されるためである。第2の効果は、測定濃度範囲の拡大され、pH変動の大きな測定試料でも高い精度で特定成分を測定することが可能になることである。その理由は、触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜上にポリアルキルシロキサン膜を形成することにより、測定対象物質の過剰な拡散が制限されるためである。第3の効果は、大量に、しかも低コストで生産が可能になることである。その理由は、既存の半導体製造工程の大部分を流用することが可能であるためである。第4の効果は、測定装置自体も小型化できることである。その理由是对極および参照極を、絶縁基板上に作用極と一緒に組み込むことが可能であるからである。第5の効果は、測定試料中の複数の特定試料成分が同時に測定できることである。その理由は複数の作用電極上にγ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜、アセチルセルロース膜、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜を介して、異なる触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜を形成できるからである。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明によるバイオセンサの第1の実施形態を示す断面図である。

【図2】本発明によるバイオセンサの第2の実施形態を示す断面図である。

【図3】本発明によるバイオセンサの第3の実施形態を示す断面図である。

【図4】本発明によるバイオセンサの第4の実施形態を示す断面図である。

【図5】γ-アミノプロピルトリエトキシシラン濃度と相対出力との関係を示す図である。

【図6】アセチルセルロース濃度と相対出力との関係を示す図である。

【図7】パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂濃度と相対出力との関係を示す図である。

【図8】グルタルアルデヒド濃度と変動係数との関係を示す図である。

【図9】本発明の実施例によるグルコースセンサの応答特性を示す図である。

【図10】本発明の実施例によるグルコースセンサのpHと相対出力の関係を示す図である。

【図11】対照例によるグルコースセンサのpHと相対出力の関係を示す図である。

【図12】従来技術のバイオセンサの一例の断面図である。

【図13】従来技術のバイオセンサの他の例の断面図である。

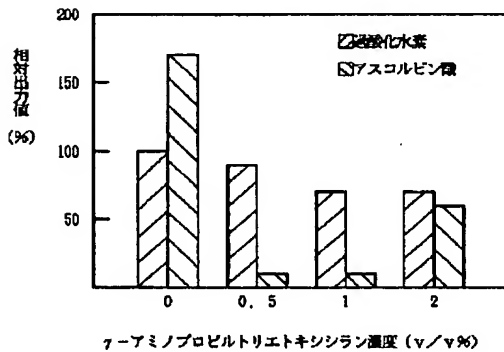
【図14】従来技術のバイオセンサのさらに他の例の断面図である。

【符号の説明】

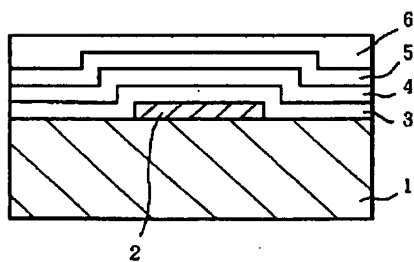
50 1 絶縁基板

- 2 過酸化水素電極
- 3 γ -アミノプロピルトリエトキシシラン膜
- 4 アセチルセルロース膜
- 5 パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜
- 6 触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜
- 7 ポリアルキルシロキサン膜
- 10 作用極
- 11 対極
- 12 参照極
- 13 触媒機能をもつ酵素を固定化した有機高分子膜
- 20 センサホルダ
- 30 下地電極
- 31 セラミックスや樹脂フィルム

【図5】



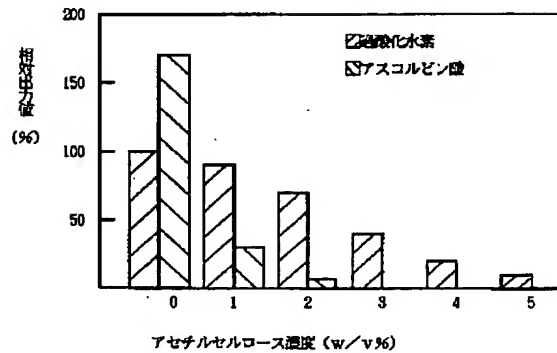
【図1】



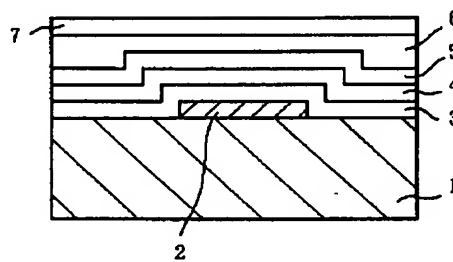
- 1: 絶縁基板
- 2: 過酸化水素電極
- 3: 第1の膜 (γ -アミノプロピルトリエトキシシラン膜)
- 4: 第2の膜 (アセチルセルロース膜)
- 5: 第3の膜 (パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜)
- 6: 第4の膜 (有機高分子膜)

- 32 金属電極
- 33 固定化酵素膜
- 34 下地保護膜
- 35 固定化酵素層
- 36 上部保護膜
- 37 表面保護膜
- 41 グルコース酸化酵素固定化膜
- 42 シリコン膜
- 51 アセチルセルロース膜
- 10 52 グルコース酸化酵素-光架橋ポリビニルアルコール混合物質
- 53 ナフィオン膜
- 54 シリコン接着剤

【図6】

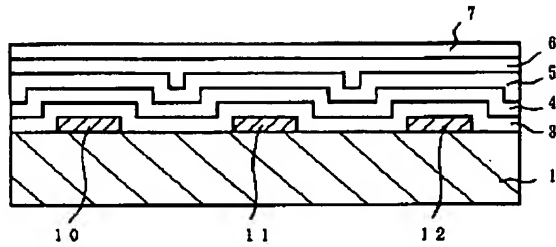


【図2】



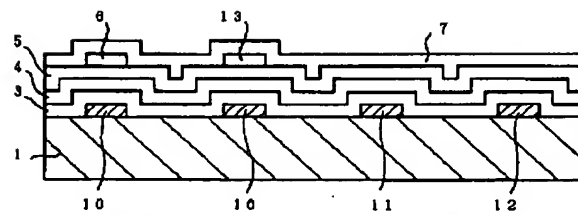
- 1: 絶縁基板
- 2: 過酸化水素電極
- 3: 第1の膜 (γ -アミノプロピルトリエトキシシラン膜)
- 4: 第2の膜 (アセチルセルロース膜)
- 5: 第3の膜 (パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜)
- 6: 第4の膜 (有機高分子膜)
- 7: 第5の膜 (ポリアルキルシロキサン膜)

【図 3】



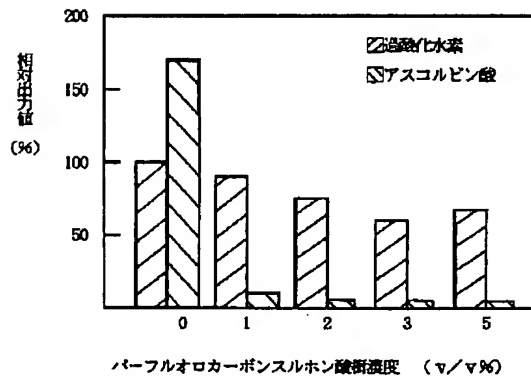
- 1: 絶縁基板
 2: 過酸化水素電極
 3: 第1の膜 (γ-アミノプロピル
 トリエトキシシラン膜)
 4: 第2の膜 (アセチルセルロース膜)
 5: 第3の膜 (パーフルオロカーボン
 スルホン酸樹脂膜)
 6: 第4の膜 (有機高分子膜)
 7: 第5の膜 (ポリアルキルシロキサン膜)
 10: 作用極
 11: 対極
 12: 参照極

【図 4】

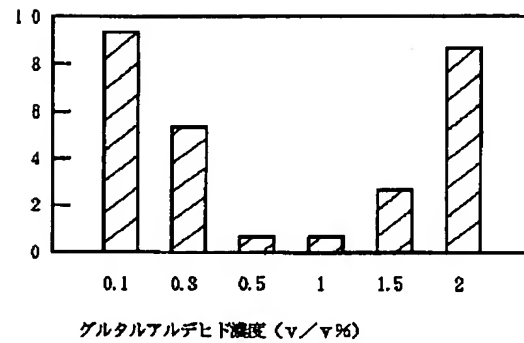


- 1: 絶縁基板
 2: 過酸化水素電極
 3: 第1の膜 (γ-アミノプロピル
 トリエトキシシラン膜)
 4: 第2の膜 (アセチルセルロース膜)
 5: 第3の膜 (パーフルオロカーボン
 スルホン酸樹脂膜)
 6: 第4の膜 (有機高分子膜)
 7: 第5の膜 (ポリアルキルシロキサン膜)
 10: 作用極
 11: 対極
 12: 参照極
 13: 有機高分子膜

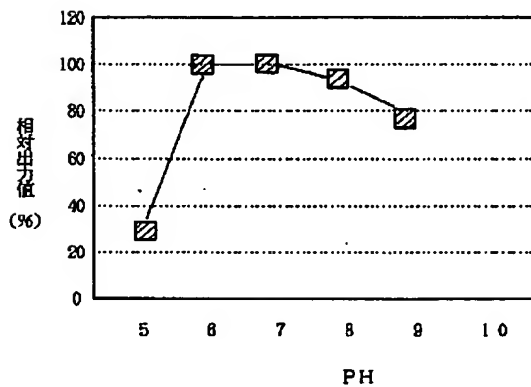
【図 7】



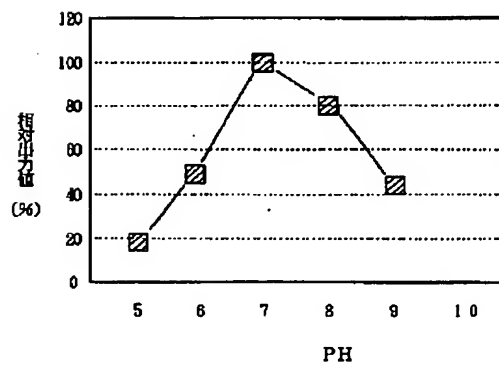
【図 8】



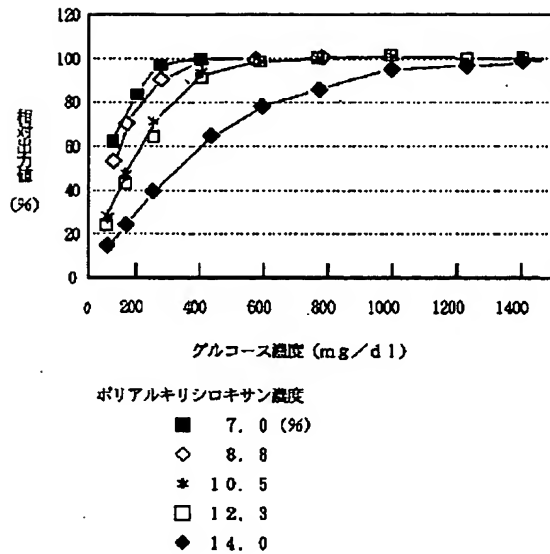
【図 10】



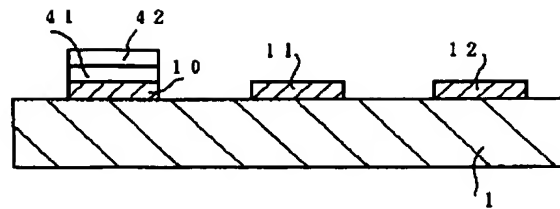
【図 11】



【図 9】

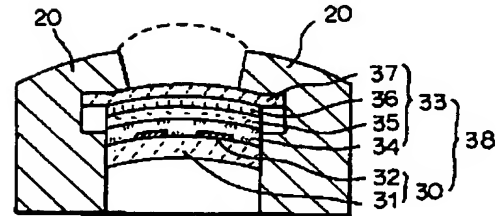


【図 13】



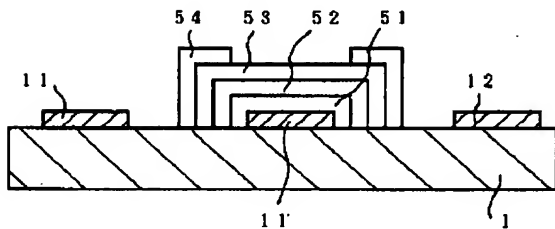
- 1: 絶縁基板
 10: 作用極
 11: 対極
 12: 参照極
 41: グルコース酸化酵素固定化膜
 42: シリコン膜

【図 12】



- 20: センサホルダ
 30: 下地電極
 31: 樹脂フィルム
 32: 金属電極
 33: 固定化酵素膜
 34: 下部保護膜
 35: 固定化酵素膜
 36: 上部保護膜
 37: 表面保護膜
 38: 酵素センサ

【図 14】



- 1: 絶縁基板
 10: 作用極
 11: 対極
 12: 参照極
 51: アセチルセルロース膜
 52: グルコース酸化酵素
 一光架橋ポリビニルアルコール混合物
 53: ナフィオン膜
 54: シリコン接着剤

フロントページの続き

(72)発明者 中本 信也
 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気
 株式会社社内

(56)参考文献 特開 昭62-261952 (JP, A)
 特開 平8-50112 (JP, A)
 特開 平6-46886 (JP, A)
 特開 平2-298855 (JP, A)
 特開 平2-296142 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl.⁶, DB名)
 G01N 27/327